

A β_{1-42} 诱导的小胶质细胞炎性反应对神经元
细胞 Mecp2 蛋白表达的影响王 婧^{1,2}, 赵 晖², 张霞婧³, 田丽颖², 喻 倩²,
李江静², 邓 斌⁴, 高昌俊², 孙绪德^{2*}(1. 潍坊医学院, 潍坊 261053; 2. 空军军医大学唐都医院麻醉科, 西安 710038; 3. 西安市第四医院麻醉科,
西安 710005; 4. 厦门大学附属翔安医院麻醉科, 厦门 361004)

【摘要】 目的: 体外研究 A β_{1-42} 诱导的小胶质细胞炎症反应对海马神经元细胞甲基化 CpG 结合蛋白 (Mecp2) 表达的影响。方法: (1) 用不同浓度的 A β_{1-42} (终浓度分别为 0, 5, 10, 20, 30 $\mu\text{mol/L}$) 处理小胶质细胞系 (N9) 24 h 后取上清液, ELISA 检测每组 N9 细胞培养上清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的含量, 选择合适的 A β_{1-42} 的终浓度。(2) 用 A β_{1-42} (终浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$) 及 TLR4 拮抗剂 TAK-242 (终浓度为 1 $\mu\text{g/ml}$) 处理小胶质细胞系 (N9), 分为 3 组: 正常对照组 (con 组)、单纯 A β_{1-42} 处理组 (A β_{1-42} 组)、A β_{1-42} 处理后 TAK-242 干预组 (TAK-242 组)。24 h 后取上清液, ELISA 检测每组 N9 细胞培养上清中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的含量。(3) 实验分组同 (2), 24 h 后收集培养液, 分别干预生长良好的海马神经元细胞系 (HT-22)。24 h 后, 通过 Western Blot、免疫荧光染色方法检测每组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白的表达。结果: (1) ELISA 结果显示: 与 con 组相比, A β_{1-42} 处理后, N9 细胞分泌的 TNF- α 、IL-1 β 的表达量随 A β_{1-42} 浓度的增加而增加 ($P < 0.05$)。(2) ELISA 结果显示: 与 con 组相比, A β_{1-42} 组的 TNF- α 、IL-1 β 的表达水平明显提高 ($P < 0.05$); TAK-242 组的细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 水平较 A β_{1-42} 组显著降低 ($P < 0.05$)。(3) Western Blot 结果显示: 与 con 组相比, A β_{1-42} 组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达明显增加 ($P < 0.05$); 与 A β_{1-42} 组相比, TAK-242 组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达明显减少 ($P < 0.05$)。(4) 免疫荧光染色结果显示: 与 con 组相比, A β_{1-42} 组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达明显增强; 而与 A β_{1-42} 组相比, TAK-242 组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达减弱。结论: A β 诱导的小胶质细胞发生炎症反应, 导致神经元的损伤, 可能是由于这种炎症反应使得神经元细胞中 Mecp2 蛋白的表达量增加, 从而损伤神经元。

【关键词】 A β_{1-42} ; Mecp2 蛋白; 小胶质细胞; 海马神经元

DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2018.03.013

Effect of A β_{1-42} induced microglial inflammatory response
on the expression of Mecp2 protein in neuron cellsWang Jing^{1,2}, Zhao Hui², Zhang Xiaojing³, Tian Liying², Yu Qian²,
Li Jiangjing², Deng Bin⁴, Gao Changjun², Sun Xude²(1. Weifang Medical University, Weifang 261053; 2. Department of Anesthesiology, Tangdu Hospital, The Fourth Military
Medical University, Xi'an 710038; 3. Department of Anesthesiology, Xi'an No. 4 Hospital, Xi'an 710005;
4. Department of Anesthesiology, Xiang'an Hospital, Xiamen 361004, China)

【Abstract】 Objective: The effect of A β_{1-42} induced microglia inflammatory response on the expression of methylated CpG binding protein (Mecp2) in hippocampal neurons *in vitro*. **Methods:** (1) The treatment of microglia cell line (N9) with different concentrations of A β_{1-42} (final concentration of 0, 5, 10, 20, 30 $\mu\text{mol/L}$), 24 h after the superna-

基金项目: 国家自然科学基金 (31570845), 陕西省自然科学基金重大项目 (2016ZDJC-16), 国家自然科学基金青年项目 (81501207)

* 通讯作者: 孙绪德 电话: 13891905550, E-mail: sunxude@ fmmu.edu.cn

tant, ELISA detection of each N9 cell culture supernatant in inflammatory factor TNF- α , IL-1 β , the choice of A β ₁₋₄₂ concentration. (2) The treatment of microglia cell line (N9) with A β ₁₋₄₂ (final concentration of 20 μ mol/L) and TLR4 antagonist TAK-242 (final concentration of 1 μ g/ml). It was divided into 3 groups: normal control group (group con), simple A β ₁₋₄₂ treatment group (group A β ₁₋₄₂) and TAK-242 intervention group after A β ₁₋₄₂ treatment (group TAK-242). After 24 h, the supernatant was taken, and the content of the inflammatory factors TNF- α and IL-1 β in the culture supernatant of N9 cells in each group was detected by ELISA. (3) The experimental grouping is the same as (2), the culture fluid was collected after 24 h to interfere with the well grown hippocampal neuronal cell line (HT-22). After 24 h, the expression of Mecp2 protein in each HT-22 cell was detected by Western Blot and immunofluorescence staining.

Results: (1) The results of ELISA showed that compared with the con group, after A β ₁₋₄₂ treatment, the expression of TNF- α and IL-1 β secreted by N9 cells increased with the increase of A β ₁₋₄₂ concentration ($P < 0.05$). (2) The results of ELISA showed that compared with the con group, the expression level of TNF- α and IL-1 β in A β ₁₋₄₂ group was significantly increased ($P < 0.05$); The level of TNF- α and IL-1 β secreted in the TAK-242 group were significantly lower than those in the A β ₁₋₄₂ group ($P < 0.05$). (3) The results of Western Blot showed that compared with the con group, the expression of Mecp2 protein in the A β ₁₋₄₂ group HT-22 cells increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the A β ₁₋₄₂ group, the Mecp2 protein expression in the HT-22 cells of the TAK-242 group decreased significantly ($P < 0.05$). (4) Immunofluorescence staining showed that compared with the con group, the expression of Mecp2 protein in the HT-22 cells increased significantly in the A β ₁₋₄₂ group, while the expression of Mecp2 protein in the HT-22 cells of the TAK-242 group was weaker than that of the A β ₁₋₄₂ group. **Conclusion:** A β induced inflammatory reaction in microglia can lead to neuronal damage, probably due to the increased expression of Mecp2 protein in neurons and the damage of neurons.

【Key words】 A β ₁₋₄₂; Mecp2 protein; microglia; hippocampal neurons

A β 来源于淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 的酶解, 是体液中存在的一种正常的可溶性蛋白。正常情况下, 生理浓度的 A β 浓度极低, 对神经元具有营养作用, 但是在病理情况下, A β 浓度升高, 并且由可溶性的形式转变为不可溶性的 β 折叠结构, 不易被蛋白酶所降解^[1]。小胶质细胞吞噬 A β 并发生炎症反应, 释放出炎症因子, 能够导致神经元及其突触结构和功能的破坏。甲基化 CpG 结合蛋白 (methyl-CpG-binding protein 2, Mecp2) 是一个丰富的染色体蛋白, 在哺乳动物的脑组织中表达最丰富^[2]。其正常表达对于成年哺乳动物脑内神经元存活及突触结构和功能的维持发挥重要作用^[3]。研究发现, Mecp2 表达量的改变可以使其不能够正确的与甲基化 DNA 结合, 从而不能对下游靶基因的表达进行精确的调控, 导致 Rett 综合征以及 Mecp2 重复综合征的发生^[4]。本实验使用 A β ₁₋₄₂ 体外诱导 N9 小胶质细胞活化, 释放炎症因子, 研究小胶质细胞的炎症反应对海马神经元细胞中 Mecp2 蛋白表达的影响。

材料和方法

1 材料

小鼠小胶质细胞系 (N9 细胞) 及小鼠海马神经元细胞系 (HT-22 细胞) 由本实验室保存。DMEM 高糖培养基, 胎牛血清, 胰蛋白酶, TLR4 抑制剂 TAK-242, 小鼠 TNF- α 酶联免疫吸附测定试剂盒 (欣博盛公司), 小鼠 IL-1 β 酶联免疫吸附测定试剂盒 (欣博盛公司), 小鼠抗 β -actin 单克隆抗体 (CMCTAG 公司), 小鼠抗 Mecp2 单克隆抗体 (Abcam 公司), 辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (Gene Tex 公司), A β ₁₋₄₂ (ANASPEC 公司), RAPA 裂解液 (晶彩生物), 微型蛋白质电泳和转移系统, 凝胶成像系统 (Bio-Rad 公司), 酶标仪 (Bio-Rad 公司), 荧光显微镜 (LEICA 公司), DyLight594 标记的羊抗鼠 IgG (Gene Tex 公司)。

2 方法

2.1 A β ₁₋₄₂ 的配制 将 A β ₁₋₄₂ 晶体从 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中取出, 1 mg A β ₁₋₄₂ 晶体用 220 μ l 六氟异丙醇 (HFIP) 溶解, 置于通风橱内使 HFIP 挥发。完全挥发后, 会在瓶壁上留下一层肽膜。然后用 44 μ l 的二甲基亚砜 (DMSO) 溶解, 最后用 DMEM 无血清培养基稀释至最终所需的浓度, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。使用前置于 4 $^{\circ}$ C 孵育 24 h。

2.2 细胞培养 将细胞接种于含 10% 胎牛血清、

1% 青-链霉素的 DMEM 培养基中,置于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养。2~3 d 传代一次,取生长状态良好的细胞进行实验。

2.3 N9 细胞处理

2.3.1 将 N9 细胞接种于 96 孔板内,培养 24 h 后,加入不同浓度的 A β_{1-42} (终浓度分别为 0, 5, 10, 20, 30 $\mu\text{mol/L}$),继续培养 24 h,收集细胞上清液, -20℃ 保存备用。

2.3.2 con 组不做任何处理,用正常培养基培养; A β_{1-42} 组培养基中加入 A β_{1-42} (选择 20 $\mu\text{mol/L}$ 为终浓度处理 N9 细胞); TAK-242 组培养基中加入 A β_{1-42} (终浓度 20 $\mu\text{mol/L}$) 以及 TAK-242 (终浓度 1 $\mu\text{g/ml}$)。置于细胞培养箱中培养 24 h,收集细胞的培养液, -20℃ 冰箱保存备用。

2.4 HT-22 细胞处理 con 组使用正常培养基培养; A β_{1-42} 组使用 N9 细胞 A β_{1-42} 组的培养上清进行培养; TAK-242 组使用 N9 细胞 TAK-242 组的培养上清进行培养。置于培养箱中培养 24 h 后,进行相应实验。

2.5 ELISA 法检测炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的含量

将每组 N9 细胞的培养液,4℃ 离心机中 1000 r/min,离心 20 min,取上清液为待测样品备用。按照 ELISA 试剂盒的说明书进行检测,每个样品设 3 个复孔,显色后用酶标仪在 450 nm 波长测量各孔的光密度(OD 值),绘制标准曲线,求各组样品中 TNF- α 、IL-1 β 的浓度。

2.6 Western Blot 检测 每组 HT-22 细胞处理 24 h 后,于冰上 RAPA 裂解细胞提取细胞蛋白,4℃ 离心机中 10000~14000 r/min,离心 3~5 min,取上清, BCA 法进行蛋白定量。加入上样缓冲液后,100℃ 煮 10 min 备用。每组取 30 μg 样品,以 β -actin 作为内参,经凝胶电泳,转膜,使用 5% 脱脂奶粉封闭,于配置好的一抗(小鼠抗 Mecp2 单克隆抗体,1:5000;小

鼠抗 β -actin 单克隆抗体,1:1000) 中 4℃ 孵育过夜。然后再于配置好的二抗(辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG,1:5000) 中 37℃ 孵育 2 h。洗膜后进行化学发光,并采集图像,分析条带信息。

2.7 免疫荧光染色 每组 HT-22 的细胞爬片处理 24 h 后,用 95% 的酒精固定 15 min,0.5% Triton X-100 处理 20 min,然后山羊血清封闭 30 min,再滴加配制好的一抗(小鼠抗 Mecp2 单克隆抗体,1:100),4℃ 冰箱内孵育过夜。次日,滴加配置好的二抗(DyLight594 标记的羊抗小鼠 IgG,1:200),37℃ 孵育 1 h,滴加 DAPI 溶液,避光孵育 15 min,抗荧光淬灭剂封片后于荧光显微镜下观察并采集图像。

统计学处理:采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,数据均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,各组间差异比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1 不同浓度的 A β_{1-42} 对 N9 细胞释放炎症因子的影响

ELISA 检测不同浓度 A β_{1-42} 处理 N9 细胞后,每组 TNF- α 、IL-1 β 的表达变化(Fig. 1)。结果显示:与 con 组(A β_{1-42} 终浓度为 0 $\mu\text{mol/L}$) 相比,其余各组(A β_{1-42} 终浓度为 5, 10, 20, 30 $\mu\text{mol/L}$) 的 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平的差异有统计学意义($P < 0.05$); 与 A β_{1-42} 10 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,A β_{1-42} 20 $\mu\text{mol/L}$ 组的 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平的差异有统计学意义($P < 0.05$); 而与 A β_{1-42} 20 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,A β_{1-42} 30 $\mu\text{mol/L}$ 组的 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平的差异无统计学意义($P > 0.05$)。因此,本实验中 A β_{1-42} 的浓度选择为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。

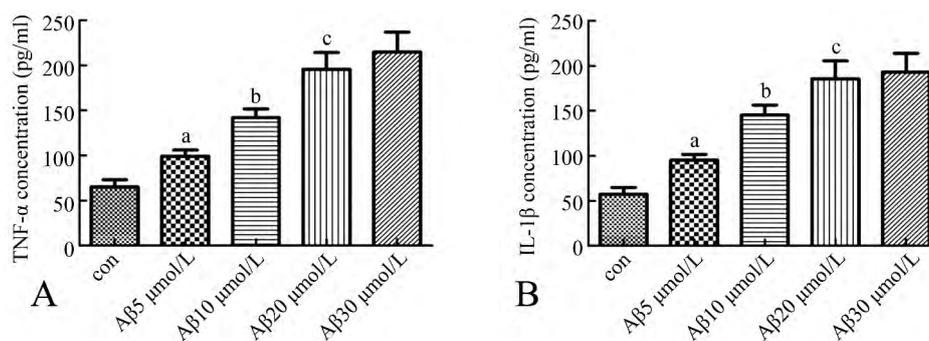


Fig. 1 Comparison of the concentration of inflammatory factors TNF- α (A) and IL-1 β (B) in the culture solution of N9 cells treated with A β_{1-42} with different concentrations. ^a $P < 0.05$ vs con group, ^b $P < 0.05$ vs A β_{1-42} 5 $\mu\text{mol/L}$ group, ^c $P < 0.05$ vs A β_{1-42} 10 $\mu\text{mol/L}$ group.

2 $A\beta_{1-42}$ 对 N9 细胞释放炎症因子的影响

用 ELISA 方法检测每组 N9 细胞培养上清中 TNF- α 、IL-1 β 的表达变化 (Fig. 2)。结果显示: 与 con 组相比, $A\beta_{1-42}$ 组的 N9 细胞炎症因子 TNF- α

(Fig. 2A)、IL-1 β (Fig. 2B) 的表达量明显升高 ($P < 0.05$); 与 $A\beta_{1-42}$ 组相比, TAK-242 组的 N9 细胞炎症因子 TNF- α (Fig. 2A)、IL-1 β (Fig. 2B) 的表达量明显降低 ($P < 0.05$)。

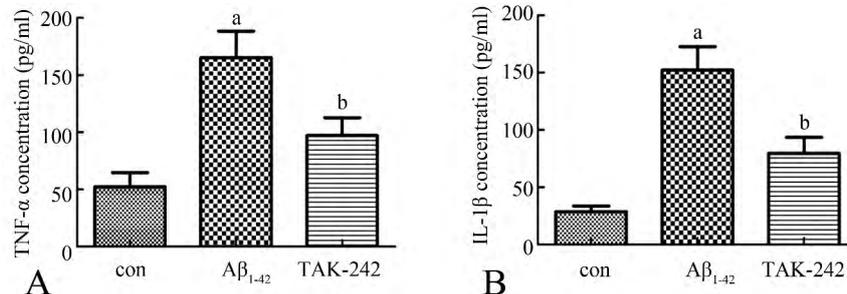


Fig. 2 Comparison of the concentration of inflammatory factors TNF- α (A) and IL-1 β (B) in the N9 cell culture medium of each group. ^a $P < 0.05$ vs con group, ^b $P < 0.05$ vs $A\beta_{1-42}$ group.

3 $A\beta_{1-42}$ 使小胶质细胞活化对神经元细胞中 Mecp2 蛋白表达的影响

用 Western Blot 方法检测每组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达的变化 (Fig. 3)。结果显示: 与 con 组相比, $A\beta_{1-42}$ 组的 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白的表达量明显增加 ($P < 0.05$); 与 $A\beta_{1-42}$ 组相比, TAK-242 组的 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白的表达量明显减少

($P < 0.05$)。

用免疫荧光染色法检测每组 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白表达的变化 (Fig. 4)。结果显示: 与 con 组相比, $A\beta_{1-42}$ 组的 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白的表达增强; 与 $A\beta_{1-42}$ 组相比, TAK-242 组的 HT-22 细胞中 Mecp2 蛋白的表达减弱。

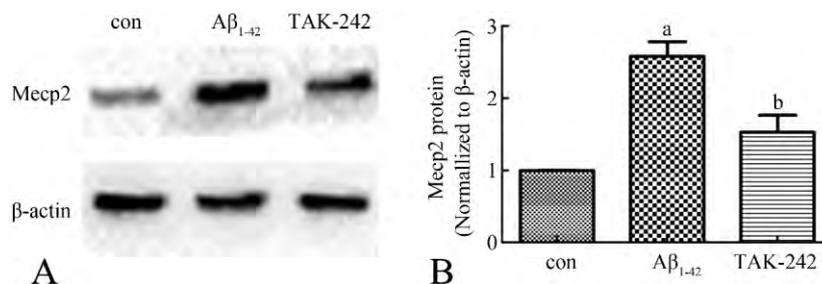


Fig. 3 Expression of Mecp2 protein in HT-22 cells of each group. ^a $P < 0.05$ vs con group, ^b $P < 0.05$ vs $A\beta_{1-42}$ group.

讨 论

$A\beta$ 来源于 β -和 γ -分泌酶裂解的淀粉样蛋白前体^[5], 存在于脑脊液和血液中, 是体液的正常组成成分。正常情况下, 脑内 $A\beta$ 的生成和降解处于一种平衡状态^[6]。但在病理状态下, $A\beta$ 水平显著升高, 产生 $A\beta_{1-40}$ 以及 $A\beta_{1-42}$ 两种形式, 其中 $A\beta_{1-42}$ 的含量较少但神经毒性强, 且易聚集^[7], 引起蛋白质以及膜性结构的损伤。有研究发现, 在对大鼠海马注射 $A\beta_{1-42}$ 后, HE 染色结果可见海马细胞体积变小, 并出现核固缩现象^[8], 导致神经元损伤。小胶质细胞是中枢

神经系统 (CNS) 中的第一道也是最重要的一道免疫防线。小胶质细胞被 $A\beta$ 激活, 成为反应性细胞^[9]。活化的小胶质细胞可以使下游炎症因子的释放量增加, 加重神经元损伤^[10]。韦美丹等^[11] 研究发现, 将神经干细胞与小胶质细胞共培养, 加入 $A\beta_{1-42}$ 处理后, 神经干细胞自我更新能力及多向分化潜能明显被抑制, 证实了 $A\beta_{1-42}$ 能通过小胶质细胞而加强对神经细胞生存的抑制。有研究发现, $A\beta$ 与小胶质细胞上的 TLR4 结合, 启动 MyD88-NF κ B 信号通路, 促使小胶质细胞活化导致炎症反应^[12]。也有研究发现, $A\beta$ 激活小胶质细胞后, TLR4 蛋白以及与其相关的

TNF- α ,IL-1 β ,IL-10 等炎症因子的表达均显著上调^[13]。TAK-242 是 TLR4 信号通路的特异性抑制剂。在体实验结果发现 ,TAK-242 可以透过血脑屏障 ,将 TLR4 信号通路阻断 ,从而下调炎症因子的表

达^[14]。体外研究也发现 ,TAK-242 可以通过阻断 TLR4 信号通路 ,来抑制 $A\beta_{1-42}$ 诱导小胶质细胞产生的炎症反应 ,减少炎症因子释放 ,并减轻神经元损伤^[15]。

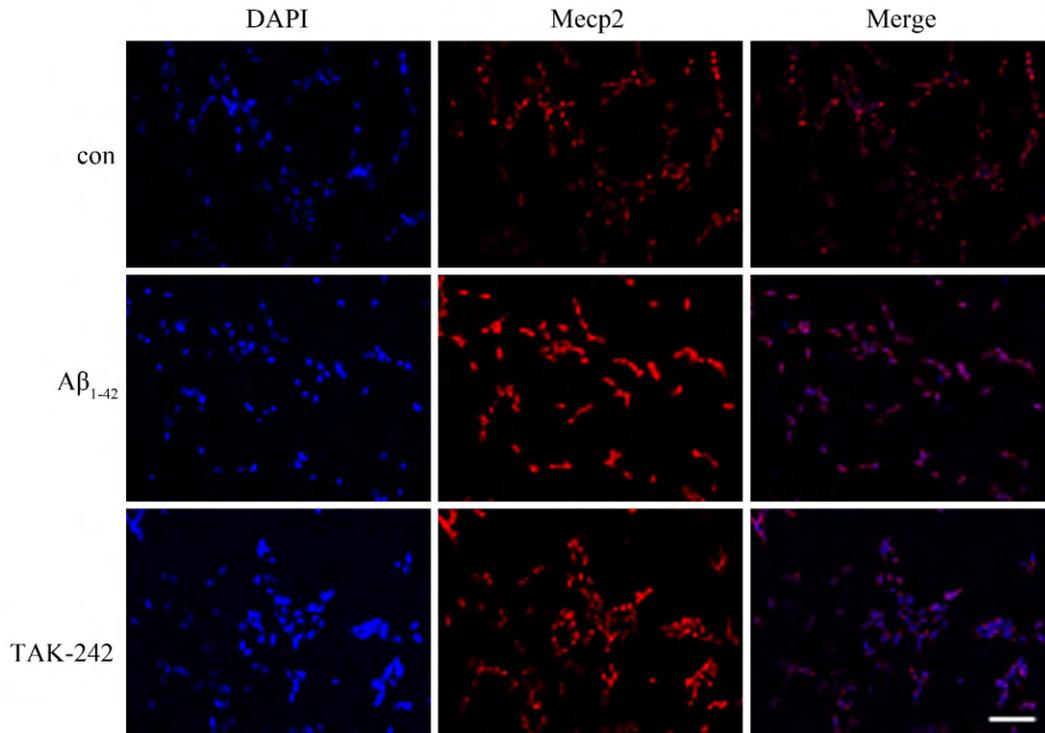


Fig. 4 The results of immunofluorescence staining of Mecp2 protein in HT-22 cells of each group. Compared with con group , the expression of Mecp2 protein in HT-22 cells of $A\beta_{1-42}$ group increased , compared with $A\beta_{1-42}$ group , Mecp2 protein expression in TAK-242 group decreased. Bar = 100 μm

Mecp2 蛋白是一种多功能的核蛋白 ,它的表达具有细胞和组织的特异性。在中枢神经系统内 ,它主要表达在神经元的细胞核内。早前研究发现 ,Mecp2 基因功能缺失型突变可以导致 Rett 综合征^[16]。随后 ,科学家又发现 Mecp2 过表达 (duplication/triplication) 同样可以使男孩出现严重的孤独症样表现、智力障碍、反复感染以及过早夭折 ,称为 Mecp2 重复综合征 (mecp2 duplication syndrome , MDS)^[17]。近年来的研究结果也证实 ,Mecp2 的过表达会导致神经系统多种疾病的发生。由此 ,神经科学家意识到精确调控 Mecp2 的表达 ,可以实现 Mecp2 基因对于中枢神经系统的正常发育和神经功能的维持作用^[16]。这些研究表明 ,Mecp2 的正常表达对于维持神经系统的正常发育和功能非常重要^[18]。

近年的研究结果显示 ,当 $A\beta$ 聚集为可溶性的寡聚体时具有神经毒性作用 ,且毒性作用强于不可溶

性的类淀粉样蛋白质^[19]。有研究发现 , $A\beta_{1-42}$ 经六氟异丙醇 (HFIP) 作用后 ,均以单体形式存在 ,与二甲亚砜 (DMSO) 共同孵育 24 h 后可见寡聚体^[20]。杨帆^[21] 等研究也发现 , $A\beta_{1-42}$ 单体溶于 DMSO 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h 后形成寡聚体 ,且随着孵育时间的延长 ,寡聚体状态会逐渐聚集成纤维体状态 ,同时证实了 $A\beta_{1-42}$ 的寡聚体较纤维体更具细胞毒性。因此 ,本实验的 $A\beta_{1-42}$ 溶液于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 24 h 后加入培养基中 ,诱导活化小胶质细胞。

实验中 ,以不同浓度的 $A\beta_{1-42}$ 来处理小胶质细胞 ,可见小胶质细胞分泌炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的水平与 $A\beta_{1-42}$ 的浓度有剂量相关性。但与 $A\beta_{1-42}$ 20 $\mu\text{mol/L}$ 组相比 , $A\beta_{1-42}$ 30 $\mu\text{mol/L}$ 组的 TNF- α 和 IL-1 β 的表达水平差异无统计学意义。因此 ,本实验中 $A\beta_{1-42}$ 的浓度选择为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。用 $A\beta_{1-42}$ 处理后的小胶质细胞的培养上清液去干预海马神经元细胞 ,可以发现神经元细胞中 Mecp2 蛋白的表达量明显增

加。当加入 TLR4 抑制剂 TAK-242, 抑制了 $A\beta_{1-42}$ 激活小胶质细胞的炎症反应后, 神经元细胞中 Mecp2 蛋白的表达量减少。这与 Bie 等^[3]的研究: $A\beta$ 通过增强小胶质细胞的炎症反应, 明显加强 Mecp2 蛋白的活性这一结果相一致。这就表明 $A\beta_{1-42}$ 引起的神经元的损伤, 有可能是因为 $A\beta_{1-42}$ 导致的小胶质细胞的炎症反应增加了神经元中 Mecp2 蛋白的表达量, 从而引起了神经元损伤。而 Mecp2 也是一种重要的转录抑制因子, 它可以与单甲基化 CpG 位点特异性结合从而抑制基因转录, 同时它还可以通过增强 DNA 胞嘧啶甲基化的水平来进一步抑制其转录。Bie 等^[3]的研究也发现, $A\beta$ 使海马神经元的 Mecp2 活性增加, 促进 DNA 胞嘧啶甲基化, 从而抑制 Neuroligin1 表达, 导致神经元突触结构和功能的破坏。由此我们可以认为: $A\beta$ 导致 Mecp2 活性增加, 抑制了能够促进神经元生长的某些蛋白的表达, 从而导致了神经元损伤。但是对于相关机制仍需进一步研究。

综上所述, 本研究发现 $A\beta$ 可以使神经元细胞内 Mecp2 蛋白活性增加, 从而导致神经元损伤, 这对研究 $A\beta$ 导致神经系统损伤的机制提供了新的思路和靶点。

参 考 文 献

- [1] Tatarnikova OG, Orlov MA, Bobkova NV. Beta-amyloid and tau-protein: structure, interaction, and prion-like properties [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2015, 80: 1800 - 1819.
- [2] 李凌蒙. 甲基化 CpG 结合蛋白 2 (MeCP2) 基因的克隆和 Western 检测 [J]. *科协论坛*, 2011, 4: 87 - 88.
- [3] Bie B, Wu J, Yang H, *et al.* Epigenetic suppression of neuroligin 1 underlies amyloid-induced memory deficiency [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17: 223 - 231.
- [4] Na ES, Nelson ED, Kavalali ET, *et al.* The impact of MeCP2 loss-or gain-of-function on synaptic plasticity [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2013, 38: 212 - 219.
- [5] Lee J, Culyba EK, Powers ET, *et al.* Amyloid-beta forms fibrils by nucleated conformational conversion of oligomers [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 602 - 609.
- [6] 胡智萍, 王肖丽, 张振龙, 等. 不同衬底上生物膜与 $A\beta$ 蛋白的相互作用的研究 [J]. *光散射学报*, 2016, 28: 168 - 174.
- [7] Tang SS, Hong H, Chen L, *et al.* Involvement of cysteinyl leukotriene receptor 1 in $A\beta_{1-42}$ -induced neurotoxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. *Neurobiol Aging*, 2014, 35: 590 - 599.
- [8] 易玉新, 吴石星, 叶茂盛, 等. $A\beta_{1-42}$ 海马注射对大鼠海马细胞的影响及黄精多糖的干预研究 [J]. *中南大学学报 (医学版)*, 2014, 39: 344 - 348.
- [9] Heneka MT, Kummer MP, Stutz A, *et al.* NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice [J]. *Nature*, 2013, 493: 674 - 678.
- [10] Loane DJ, Byrnes KR. Role of microglia in neurotrauma [J]. *Neurotherapeutics*, 2010, 7: 366 - 377.
- [11] 韦美丹, 林继宗, 朱宁, 等. $A\beta_{1-42}$ 作用的小胶质细胞对体外培养的神经营养细胞生存的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28: 683 - 688.
- [12] Yang Y, Ye RD. Microglial $A\beta$ receptors in Alzheimer's disease [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35: 71 - 83.
- [13] Zhou X, Yuan L, Zhao X, *et al.* Genistein antagonizes inflammatory damage induced by beta-amyloid peptide in microglia through TLR4 and NF-kappaB [J]. *Nutrition*, 2014, 30: 90 - 95.
- [14] Hua F, Tang H, Wang J, *et al.* TAK-242, an antagonist for Toll-like receptor 4, protects against acute cerebral ischemia/reperfusion injury in mice [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35: 536 - 542.
- [15] 赵超, 宋书莲, 周洁, 等. TLR4 受体拮抗剂对 $A\beta_{1-42}$ 诱导的小胶质细胞因子分泌的影响 [J]. *实用临床医药杂志*, 2016, 20: 1 - 5.
- [16] 彭镜. MECP2 基因及 MECP2 相关疾病 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2017, 19: 494 - 497.
- [17] Van Esch H, Bauters M, Ignatius J, *et al.* Duplication of the MECP2 region is a frequent cause of severe mental retardation and progressive neurological symptoms in males [J]. *Am J Hum Genet*, 2005, 77: 442 - 453.
- [18] Chao HT, Zoghbi HY. Mecp2: only 100% will do [J]. *Nat Neurosci*, 2012, 15: 176 - 177.
- [19] Kokubo H, Kaye R, Glabe CG, *et al.* Soluble $A\beta$ oligomers ultrastructurally localize to cell processes and might be related to synaptic dysfunction in Alzheimer's disease brain [J]. *Brain Res*, 2005, 1031: 222 - 228.
- [20] 王建秀, 王德生, 段淑荣, 等. 原子力显微镜观察不同 $A\beta$ 聚集状态的研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18: 33 - 35.
- [21] 杨帆, 李东风, 徐书雯. $A\beta_{1-42}$ 寡聚体与纤维体的制备及鉴定 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33: 2076 - 2078.

(收稿日期: 2018-01-20)